R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

37.

O. VERONA E A. DEL TREDICI

Ulteriori contribuzioni

alla conoscenza della microbiologia dei terreni

della bassa Val di Cecina

PISA: ARTI GRAFICHE PACINI MARIOTTI - 1930

Estratto dal *Bollettino del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa*

Volume VI - Anno 1930

O. VERONA e A. DEL TREDICI

Ulteriori contribuzioni alla conoscenza della microbiologia dei terreni della bassa Val di Cecina

In continuazione ai numerosi studi biopedologici eseguiti nel Laboratorio di Batteriologia dell'Istituto Superiore Agrario di Pisa e, particolarmente, a quelli riferentisi al piano della bassa Val di Cecina, sono state condotte le ricerche di cui appresso si riferisce.

Esse comprendono l'indagine microbiologica di alcuni tipi caratteristici di terreno, e, cioè, gli esami quantitativi e qualitativi delle microforme durante le stagioni invernale, primaverile ed estiva; non che l'indagine microbiochimica per gli stessi suoli e le stesse stagioni, in quanto ha attinenza con il movimento del capitale azoto.

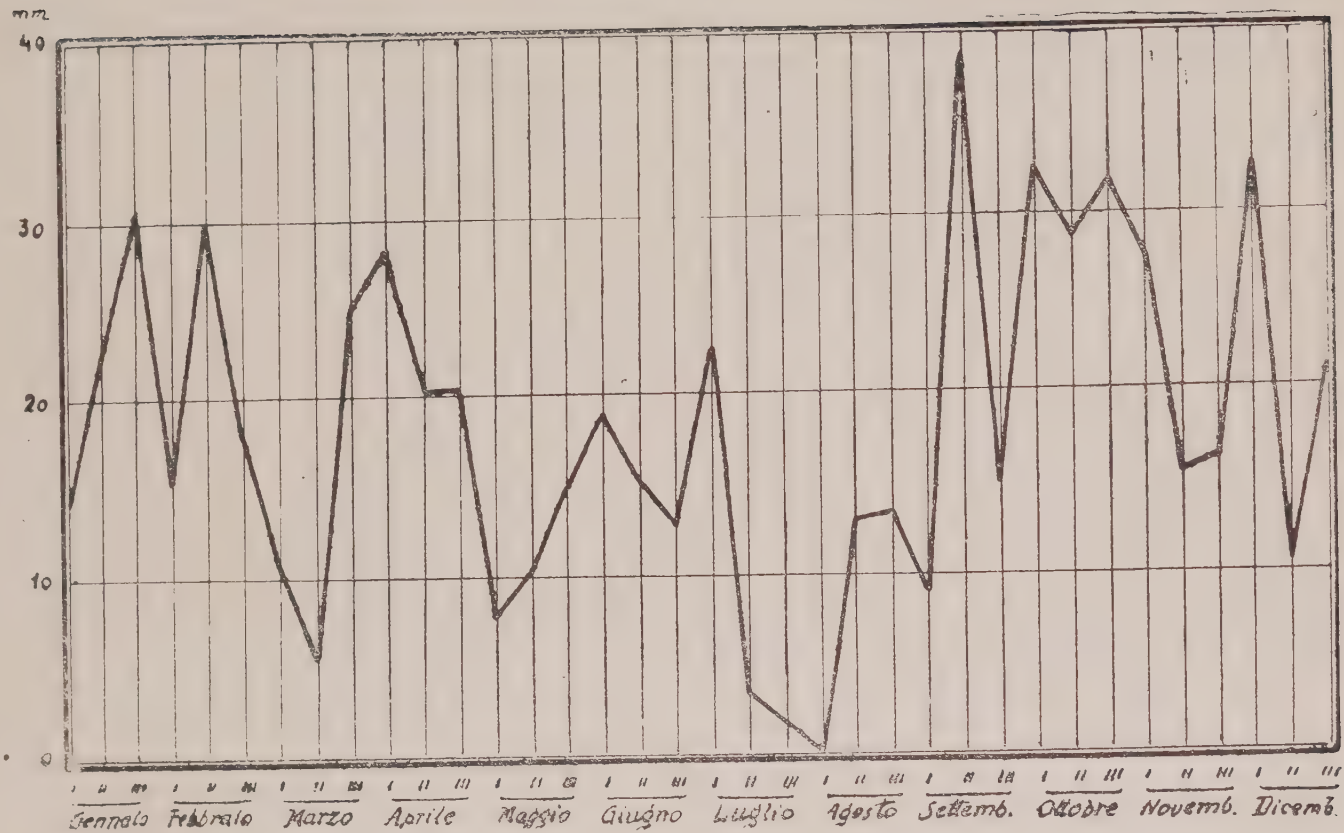
Sui caratteri agrologici e agronomici di questa zona fu già riferito.(1) A complemento di quelle notizie torna qui opportuno di mettere in rilievo le caratteristiche udometriche che sono peculiari per la regione che interessa e, sotto alcuni aspetti, regolatrici delle attività microrganiche del suolo.

I dati sono stati tratti dal Bollettino idrografico del R. Genio Civile e si riferiscono alla stazione pluviometrica di Cecina, per gli anni compresi tra il 1920 e il 1925.

---

(1) Perotti R. e Mastalli F. — *Studi microbiologici sui terreni della Bassa Maremma di Val di Cecina.* Boll. R. Istituto Superiore Agrario di Pisa, 1927.

MESI E DECADI		Pioggia in mm. caduta e giorni piovosi relativi agli anni											
		1920		1921		1922		1923		1924		1925	
		mm.	g.	mm.	g.	mm.	g.	mm.	g.	mm.	g.	mm.	g.
Gennaio	1	—	-	21	4	30.—	1	5.2	1	23.—	3	9	1
	2	—	—	35.5	3	28.2	6	41.5	3	28.5	5	—	—
	3	—	—	23.0	3	17.8	3	9.—	1	11.6	1	130—	6
Febbraio	1	—	—	13.6	6	63.2	4	8.5	1	5.—	1	8.8	2
	2	—	—	—	—	10.1	3	32.5	3	58.—	4	79.9	6
	3	14.2	1	—	—	7.—	1	15.7	2	31.5	3	43.8	4
Marzo	1	24.3	2	—	—	—	—	12.2	4	6.—	2	28.—	2
	2	9.5	3	—	—	0.1	2	28.2	2	—	—	—	—
	3	48.—	2	23.2	3	27.—	6	—	-	38.2	6	9	2
Aprile	1	8.4	2	15.5	2	25.9	3	17.—	4	77.—	7	27.1	3
	2	25.5	3	41.—	3	9.7	3	27.8	3	1.—	1	16.—	2
	3	17.—	1	11.3	5	9.1	3	47.—	5	—	—	40.—	3
Maggio	1	15.—	1	2.3	1	24.5	2	—	—	1	—	8.—	1
	2	—	—	18.4	3	—	—	—	—	—	—	44.3	3
	3	—	—	5.—	1	—	—	1.5	1	53	3	26.2	4
Giugno	1	73	3	28.4	3	—	—	7.—	1	—	—	—	—
	2	35	3	24.3	3	26.8	6	1.5	1	3.5	1	—	—
	3	10	1	—	—	—	—	—	—	55.8	2	12.—	1
Luglio	1	51	1	45	2	—	—	—	—	—	—	37.3	1
	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	21.—	1
	3	—	—	—	—	—	—	—	—	12.3	2	—	—
Agosto	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.2	1
	2	12.2	2	32	2	—	—	4.1	1	25.—	2	—	—
	3	13.—	3	—	—	—	—	23.—	2	1.—	1	41.4	3
Settembre	1	—	—	—	—	33.5	5	12,3	3	8.5	1	—	3
	2	—	—	31	1	36.—	2	122.5	5	3.2	1	7.—	2
	3	65	6	—	—	10.7	2	—	—	5.8	2	9.8	1
Ottobre	1	97.2	5	—	—	36.—	2	9.—	1	67.6	6	—	—
	2	72.5	7	—	—	71.7	4	—	—	2.—	1	21.5	1
	3	6.—	2	—	—	50.3	7	—	—	96.4	5	47.3	3
Novembre	1	111.--	6	14.3	6	8.1	4	11.1	5	—	—	21.7	5
	2	5.5	2	33.—	4	—	—	29.—	3	3.—	1	26.6	7
	3	27.—	5	6.7	1	1.9	2	18.8	3	11.—	1	27.2	5
Dicembre	1	48.7	7	5.—	1	2.7	2	113.1	6	23.—	3	9.2	5
	2	20.7	6	—	—	9.6	3	13.3	2	9.—	1	12.6	3
	3	35.2	4	21.7	3	42.2	8	4.6	2	22	2	3.2	1


mm.
40
30
20
10
0
Gennaio
Febbraio
Marzo
Aprile
Maggio
Giugno
Luglio
Agosto
Settemb.
Ottobre
Novemb.
Dicemb.

L'andamento della piovosità — per quanto può dedursi dal grafico annesso e dalle medie calcolate — offre, in primo luogo, una notevole irregolarità.

Durante l'anno il periodo maggiormente piovoso è l'autunno, analogamente a quanto verificasi nei piani di Grosseto e di Pisa; meno piovoso è invece l'inverno.

In primavera la maggiore piovosità è registrata in aprile; dopodichè la curva si abbassa per risalire in maggio-luglio. Bruscamente essa discende in luglio, epoca in cui si determinano le minime precipitazioni. Il regime estivo si avvicina adunque a quello delle regioni pisane, mentre si discosta da quello di Grosseto dove la siccità persiste fino agli inizi di settembre.

A parte quindi le irregolarità sopra rilevate il regime udometrico in questa stagione — che è la più critica — offre condizioni migliori della Maremma meridionale.

Inoltre, per le precipitazioni totali annue si ha:

Pisa	*Cecina*	*Grosseto*
mm. 969.5	mm. 730.8	mm. 586.7

La regione di Cecina, quindi, trovasi anche sotto questo riguardo in una condizione intermedia a quelle di Pisa e Grosseto, come per le caratteristiche climatiche la Maremma grossetana è intermedia tra l'Agro Romano e l'Agro Pisano. Le condizioni microbiologiche sono parallele: e, come i fenomeni ambientali, sono correlative della posizione topografica.

I — Prelevamento di campioni e metodo di studio.

Conformemente a quanto venne fatto da Perotti e Mastalli, il prelevamento dei campioni oggetto di ricerca, condotto secondo le comuni norme di tecnica, fu limitato alle cinque località per quanto possibile vicine a quelle precedentemente studiate.

I prelevamenti di ogni campione di suolo compresero la parte superficiale del terreno (20-25 cm. di profondità) e la parte profonda (40 cm. circa).

I mesi in cui essi caddero furono gennaio, marzo, giugno, agosto; e le località — che per gli opportuni riferimenti si ripetono — sono le seguenti:

Campione N. 1 Tenuta della Cinquantina,
» » 2 Pineta dei Cavalleggeri,
» » 3 Padule di Vada,
» » 4 Podere Vallino,
» » 5 Località « La California ».

Sebbene Perotti e Mastalli nella loro Memoria avessero riferito su di alcune indagini fisico-chimiche, interessanti i campioni oggetto di analisi, fu creduto opportuno di ripeterle per rendere di poi più chiara l'interpretazione dei reperti batteriologici.

I resultati sono consegnati nella Tabella che segue:

UBICAZIONE	Profondità	Epoca dei prelevamenti e delle analisi													
		Gennaio								Marzo			Agosto		
		Scheletro	Terra fina	Sabbia	Argilla	$CaCO_3$ %	Acqua %	Sost. org. %	pH	Acqua %	Sost. org. %	pH	Acqua %	Sost. org. %	pH
Campione 1 . .	25 cm.	—	100	33,35	41,57	0.91	19.05	5,12	6,5	16,13	5,18	6,3	8,10	5,05	6,5
	40 »	—	100	34,33	49,28	0,69	10.87	4,83	6,1	17,18	6,12	6,5	11,05	4,40	6,6
Campione 2 . .	25 »	—	100	71,14	2,60	4,06	17,16	5,04	6,3	10,99	7,10	6,1	7,16	5,80	6
	40 »	—	100	80,80	7,80	3,90	5.40	2,90	6,3	5,31	6,19	6,6	5,12	4,20	5,7
Campione 3 . .	25 »	—	100	21,62	50,07	6,17	16,78	4,36	5,1	12,30	6,40	5,5	14,30	5,30	5,2
	40 »	—	100	21,68	54,45	5,93	14,62	3,32	5,3	16,20	5,02	5,5	12,19	3,70	5,1
Campione 4 . .	25 »	52	48	30,80	42,56	9,34	14,50	2,80	5	11,07	3,78	5,3	9,10	4,—	5
	40 »	70	30	30,20	57,30	7,20	13.30	2,—	5	14,20	3,57	5.3	11,20	3,60	6
Campione 5 . .	25 »	19	81	45,36	24,73	8,07	17,84	4,—	6,5	12.13	4,87	6,9	7,13	4,50	6
	40 »	12	88	45,40	27,15	9,45	14,20	3,80	6,3	12,32	3,88	7	8,25	3,75	5,9

II — Esame quantitativo della Microflora.

L'esame quantitativo fu eseguito a mezzo di colture allestite con agar — torba Perotti e agar — fagiuoli.

L'esame delle attività biochimiche nei riguardi dell'azoto fu praticato seguendo la metodica in uso in questi Laboratori e più volte, altrove, descritta.

I risultati ottenuti nella conta dei microrganismi, eseguita nei mesi di gennaio, marzo, giugno ed agosto sono riuniti nelle tabelle che seguono.

1. Esame del mese di GENNAIO: N. di germi in 1 gr. di terra

		1° Conta		2° Conta		3° Conta		4° Conta	
		agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba
Campione 1	Suolo	20.000	400.000	35.000	70.000	45.000	130.000	55.000	130.000
	Sottosuolo	65.000	120.000	125.000	200.000	185.000	230.000	200.000	240.000
Campione 2	Suolo	—	20.000	15.000	30.000	75.000	45.000	70.000	75.000
	Sottosuolo	25.000	—	40.000	10.000	125.000	60.000	125.000	110.000
Campione 3	Suolo	30.000	5.000	150.000	5.000	160.000	20.000	170.000	20.000
	Sottosuolo	25.000	15.000	25.000	25.000	85.000	50.000	90.000	55.000
Campione 4	Suolo	105.000	35.000	290.000	75.000	300.000	130.000	300.000	130.000
	Sottosuolo	25.000	5.000	50.000	15.000	60.000	25.000	70.000	50.000
Campione 5	Suolo	50.000	—	110.000	5.000	170.000	5.000	175.000	10.000
	Sottosuolo	?	10.000	?	30.000	?	35.000	?	35.000

2. Esame del mese di MARZO: N. dei germi in 1 gr. di terra

		1° Conta		2° Conta		3° Conta	
		agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba
Campione 1	Suolo	1.130.000	100.000	1.370.000	130.000	1.400.000	130.000
	Sottosuolo	270.000	140.000	280.000	160.000	550.000	160.000
Campione 2	Suolo	230.000	100.000	260.000	110.000	470.000	120.000
	Sottosuolo	3.330.000	20.000	3.330.000	90.000	1.280.000	110.000
Campione 3	Suolo	920.000	40.000	1.390.000	40.000	1.350.000	40.000
	Sottosuolo	50.000	10.000	190.000	20.000	1.240.000	20.000
Campione 4	Suolo	40.000	30.000	130.000	40.000	180.000	50.000
	Sottosuolo	130.000	30.000	130.000	40.000	530.000	40.000
Campione 5	Suolo	210.000	30.000	320.000	50.000	390.000	50.000
	Sottosuolo	260.000	10.000	400.000	10.000	420.000	90.000

3. Esame del mese di GIUGNO: N. di germi in 1 gr. di terra

		1° Conta		2° Conta	
		agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba
Campione 1 . .	Suolo	290.000	920.000	300.000	2.250.000
	Sottosuolo	3.520.000	1.300.000	4.300.000	1.900.000
Campione 2 . .	Suolo	340.000	90.000	360.000	150.000
	Sottosuolo	920.000	640.000	970.000	510.000
Campione 3 . .	Suolo	480.000	260.000	700.000	290.000
	Sottosuolo	350.000	60.000	460.000	110.000
Campione 4 . .	Suolo	630.000	260.000	660.000	310.000
	Sottosuolo	170.000	120.000	200.000	210.000
Campione 5 . .	Suolo	390.000	620.000	470.000	650.000
	Sottosuolo	430.000	70.000	440.000	80.000

4. Esame del mese di AGOSTO: N. dei giorni per 1 gr. di terra

		1° Conta		2° Conta		3° Conta	
		agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba	agar fagiuoli	agar torba
Campione 1 . .	Suolo	940.000	570.000	1.090.000	570.000	1.200.000	570.000
	Sottosuolo	420.000	80.000	440.000	90.000	450.000	90.000
Campione 2 . .	Suolo	2.250.000	1.120.000	2.250.000	1.150.000	2.250.000	1.150.000
	Sottosuolo	1.900.000	420.000	1.920.000	420.000	1.920.000	430.000
Campione 3 . .	Suolo	1.080.000	260.000	1.100.000	300.000	1.200.000	350.000
	Sottosuolo	150.000	30.000	150.000	60.000	150.000	60.000
Campione 4 . .	Suolo	350.000	280.000	550.000	400.000	630.000	450.000
	Sottosuolo	270.000	120.000	300.000	230.000	320.000	250.000
Campione 5 . .	Suolo	610.000	80.000	710.000	110.000	780.000	130.000
	Sottosuolo	550.000	50.000	550.000	60.000	550.000	60.000

Per una migliore interpretazione di essi è da ritenersi opportuno di riunirli (tenendo conto dell'ultima conta e facendo la media dei diversi substrati) e di integrarli con quelli relativi ai mesi di dicembre (1926) e aprile (1927) trovati da Perotti e Mastalli.

		N. dei germi per 1 gr. di terra					
		Dicembre (1926)	Gennaio (1929)	Marzo (1929)	Aprile (1927)	Giugno (1929)	Agosto (1929)
Campione 1 . .	Suolo	352.500	92.500	765.000	345.000	1.275.000	885.000
	Sottosuolo	75.500	220.000	355.000	730.000	3.100.000	270.000
Campione 2 . .	Suolo	452.000	72.500	295.000	237.000	255.000	1.700.000
	Sottosuolo	57.000	117.000	695.000	150.000	740.000	1.225.000
Campione 3 . .	Suolo	440.000	145.500	785.000	837.000	495.000	775.000
	Sottosuolo	282.000	72.500	630.000	895.000	285.000	105.000
Campione 4 . .	Suolo	?	215.000	115.000	1.087.000	485.000	540.000
	Sottosuolo	40.000	60.000	285.000	597.000	205.000	285.000
Campione 5 . .	Suolo	95.000	92.500	220.000	475.000	560.000	455.000
	Sottosuolo	97.500	35.000	255.000	210.000	260.000	305.000

Confrontando i risultati di questi diversi esami, mentre restano in parte confermate le precedenti osservazioni, e più particolarmente il fatto che i suoli cecinensi non sono, in confronto ad altri — anche ai vicini della campagna Pisana — soverchiamente ricchi di vegetazione microbica, si ottiene delineato più estesamente l'andamento stagionale dello sviluppo della microflora.

Sebbene non ancora completo, esso tuttavia permette di osservare come le variazioni stagionali si riflettano più o meno intensamente sul regime microbico che, dall'inverno, va progredendo in primavera e, per alcuni suoli, ancor più in estate. In questo periodo, pertanto, non sono stati registrati quegli alti incrementi numerici da altri osservati nella pianura di Pisa e di Grosseto.

In estate è pure costantemente inferiore il contenuto microbico del sottosuolo in confronto agli strati superficiali.

Negli altri periodi questo si rende meno evidente e, a seconda dell'ubicazione, è ora maggiore o minore nell'uno o nell'altro.

Inoltre è da porre in evidenza il fatto che, nella loro quasi totalità, i terreni esaminati sono risultati acidi, aggirandosi l'esponente di questa acidità intorno a pH 5-6.

Questa circostanza è probabile che abbia influito sullo sviluppo colturale dei microbi riuscendo altrimenti difficile di interpretare i meno buoni risultati che l'agar-torba ha fornito in confronto a quelli di ogni altro substrato, contrariamente a quanto sempre si è ottenuto in questo Laboratorio.

III — **Esame qualitativo della microflora.**

L'esame qualitativo della microflora fu limitato alle colture allestite per le conte.

È a premettersi che, in genere, si ebbe sempre uniforme distribuzione di specie e che, nei mesi invernali e primaverili, il numero delle forme micetiche e di quelle batteriche fu equivalente ed in alcuni campioni, superiore per i funghi

Questo fatto, che in proporzioni minori si verificò anche durante i periodi in cui caddero le osservazioni di Perotti e Mastalli, va rapportato alla natura dei terreni decisamente acidi alcuni; circostanza che, mentre da una parte ostacola lo sviluppo di batteri terricoli, favorisce dall'altra quello dei funghi.

Gli emendamenti calcarei, così, e in genere l'aggiunta di qualsiasi materiale atto a correggere la concentrazione idrogenionica tornerebbero opportuni non solo dal punto di vista fisico-chimico ma pur anche da quello biologico.

Per l'esame delle forme, isolate in numero di 11, servirono le piastre allestite per l'esame quantitativo.

Isolate in coltura pura e studiate nei loro caratteri colturali, morfologici e fisiologici, sono quelle di cui appresso è proceduto al riferimento sistematico.

1. — *Bact. limbatum*, Marpmann.

Dal soprasuolo del Podere Vallino; da piastre all'agar fagiuoli.

Su piastre: forma colonie superficiali isolate, opache, bianche, poltacee, circolari, leggermente rilevate a contorno continuo e struttura omogenea, più spesse ai margini.

= In coltura a striscio su agar-fagiuoli: dopo 7 giorni di coltura forma patina continua estesa, opaca, bianca, poltacea, liscia, umida, a contorno continuo, scolante con deposito nell'acqua di condensazione, che non intorbida; e tali caratteri si mantengono per oltre 30 giorni di coltura.

= Su agar-peptone: lo sviluppo è marcatamente più lento e soltanto verso il 15° giorno si manifesta con caratteri analoghi allo sviluppo su agar fagiuoli.

= Nei brodi: lo sviluppo si manifesta dopo circa dieci giorni di coltura ed i liquidi rimangono scorrevoli, ma intorbidano omogeneamente formando deposito fioccoso particolarmente con il progresso della coltura; non si ha coperta, non si formano gaz.

= Su carota; lo sviluppo pure lento, si manifesta a mezzo di patina continua, umida, rilevata.

= Su patata; al 7° giorno, si ha già sviluppo con aspetto di leggera patina bianca che lascia inalterato il substrato e che tale si mantiene oltre il 30° giorno di coltura.

= Le infissioni in agar dettero luogo a sviluppo in superficie, iniziatosi circa il 7° giorno e che venne estendendosi al 15° prolungandosi leggermente lungo il fittone e dando luogo a brevi ramificazioni laterali.

In gelatina si limitò alla superficie e non si ebbe traccia di liquefazione trascorso il 30° giorno di coltura.

= Nel latte: lo sviluppo fu notevole e ne determinò, già al 7° giorno, la coagulazione.

Si tratta di elementi formati da grossi bastoncini, talvolta riuniti in fili, immobili, di μ 3—3. 2 $\times$ 1.5—1.8, colorabili con i comuni colori di anilina ma non resistenti al Gram, non fluidificanti la gelatina, coagulanti il latte, asporulanti.

2. — Bact. Danielii, n. sp.

Dalla medesima località del precedente: da piastre all'agar-fagiuoli.

= Su colture a piatto: forma colonie superficiali, grandi isolate, opache, bianche, poltacee, subcircolari, leggermente rilevate, a contorno più o meno lobato e con struttura omogenea.

= In coltura a striscio forma:

Su agar-fagiuoli: patina, continua, estesa, opaca, bianca, poltacea, raggrinzata a contorno continuo, scolante con leggero deposito nell'acqua di condensazione che rimane limpida anche al 30° giorno di coltura.

Su agar-peptone, con sviluppo più lento, caratteri simili.

= Nei brodi: sviluppo anche lento, ma il liquido è scorrevole, torbido, omogeneo, con deposito fioccoso; assenza di pellicola in superficie e di bollicine gassose.

= Su carota: patina, al 15° giorno di coltura, simile a quella dell'agar fagiuoli.

= Su patata: patina bianca, continua inalterante il substrato ed assumente dopo il 21° giorno colore gialliccio.

= In infissioni di agar: sviluppo in superficie e molto leggero lungo il fittone.

In gelatina: sviluppo in superficie al 7° giorno, leggero infossamento al 15° giorno, inizio di liquefazione al 20°; fluidificazione a coppa al 30° giorno e indi a cilindro.

= Nel latte sviluppa chiarificandolo.

Grossi bastoncini immobili, riuniti a due, a tre, raramente in più a corti fili, misuranti μ 3 — 3·2 × 1.8 — 2.

Prendono il violetto di genziana e la carbolfucsina di Ziehl; sono Gram-positivi, fluidificano la gelatina, il latte; asporulanti.

3. — *Bact. flavum non liquefaciens*, n. sp.

Dal sottosuolo de « La California » ; da piastre all'agar fagiuoli.

= Su colture a piatto: forma colonie piccole, superficiali, circolari, piatte, opache, gialle, poltacee continue, isolate, omogenee.

= Nelle colture a striscio forma:

Su agar-fagiuoli: patina superficiale, continua, estesa, giallastra, poltacea, opaca, omogenea, fortemente scolante nell'acqua di condensazione.

Su agar-peptone: tenue patina a lento sviluppo simile a quella su agar-fagiuoli, ma trasparente.

= Nei brodi: lo sviluppo è non abbondante con leggero intorbidamento omogeneo, scarso deposito fioccoso assenza di pellicola e di gaz.

= Su carota: non si sviluppa.

= Su patata: lo sviluppo è molto stentato.

= Le infissioni: su agar dettero luogo ad abbondante sviluppo in superficie e leggero lungo il fittone.

In gelatina: al 7° giorno, sviluppo notevole in superficie e leggero lungo il fittone — in seguito leggero infossamento ma non fluidificazione.

= Nel latte sviluppa chiarificandolo.

Piccoli bastoncini mobili, di μ 1.5 — 2 × 0.6 — 0.8, prendenti i colori di anilina non resistenti al Gram, non fluidificanti la gelatina, asporulanti.

4. — *Bact. violaceum*, (I. Schroeter) L. e N.

Dalla Tenuta della Cinquantina; da piastre all'agar-fagiuoli.

5. — *Bact. Ussanii*, Per. et Ver.

Dal soprasuolo del Podere « Vallino »; da piastre all'agar-fagiuoli.

= Su piastra: forma colonie piccole, isolate, superficiali, piatte, di color giallo-cedro, poltacee, a contorno continuo, struttura omogenea.

= Negli strisci forma:

Su agar-fagiuoli: patina continua, estesa, gialliccia, poltacea, opaca, scolante lentamente e formante deposito senza intorbidamento nel liquido.

Su agar-peptone: sviluppo leggermente più lento, simile a quello su agar-fagiuoli.

= Nei brodi: sviluppa intorbidando e formando al fondo deposito fioccoso con assenza di coperta e di gaz.

= Su carota e patata sviluppa stentatamente.

= Nelle infissioni in agar, sviluppa in superficie e leggermente lungo il fittone;

In gelatina; non si ha che sviluppo superficiale e non lungo il fittone con semplice infossamento al 15° giorno.

= Nel latte, che rimane non alterato, si ha leggero sviluppo.

Piccoli elementi mobili a forma di bastoncino, misuranti μ 1.2 — 1.5 × 0.3 — 0.4, prendono i comuni colori di anilina, resistono alla decolorazione secondo Gram, non fluidificano la gelatina, non coagulano il latte, non sporificano.

6. — *Bact. fluorescens liquefaciens,* Flügge.

Più o meno presente in tutti i terreni.

7. — *Bact. album,* (Eisenberg) Lehm. e Neum.

Dalla località « California » ; da piastre all'agar-fagiuoli.

= Nelle colture a piatto: forma colonie grandi, superficiali, isolate, talvolta confluenti, rilevate bianche, opache, mucose, tonde, o subrotonde, a contorno continuo, struttura omogenea.

= Nelle colture a striscio forma:

Su agar-fagiuoli: patina superficiale, estesa, continua, mucosa, bianca, opaca, abbondantemente scolante.

Su agar-peptone: patina con caratteri simili, raggiungente un minore sviluppo.

= Nei brodi: al 7° giorno, si ha sviluppo abbondante con intorbidamento omogeneo del liquido e forte deposito fioccoso; al 15° giorno, questo è ancora più abbondante e si forma leggera pellicola superficiale; comunque il liquido rimane scorrevole e non si ottiene sviluppo di gaz.

= Su carota: leggera patina bianchiccia e umida.

= Su patata: abbondante patina, secca, rilevata, un pò grinzosa; che in progresso di tempo annerisce il substrato.

= Nelle infissioni: su agar, sviluppa bene in superficie e leggermente lungo il fittone.

Su gelatina: si ha parimenti sviluppo in superficie, assenza di fluidificazione ed in seguito soltanto affossamento.

Nel latte sviluppa, coagulandolo.

Bastoncini mobili, misuranti μ 2.8—3.2 $\times$ 0.8—1, prendenti i colori di anilina, non resistenti al Gram, non fluidificanti la gelatina coagulanti il latte, asporulanti.

8. — *Actinomyces,* sp.

Dal sottosuolo del Padule di Vada: da piastre all'agar fagiuoli.

Vegetazione aerea color arancio.

9. — *Torula* (rubra).

Dal sottosuolo della pineta dei Cavalleggeri: da piastre all'agar-torba.

Di questa forma, così frequente in ogni terreno studiato in questo Laboratorio, già è riferito nelle precedenti Memorie.

10. — *Oospora,* sp.

Dal padule di Vada, da piastra all'agar-torba.

11. — *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link.

IV — **Le attività biochimiche nei riguardi della circolazione dell'azoto.**

Queste interessano particolarmente la misura dei poteri di ammonizzazione, nitrificazione, denitrificazione, fissazione dell'azoto elementare.

I metodi seguiti sono quelli fissati nella « Tecnica di Biologia Vegetale applicata all'Agricoltura » del Prof. R. Perotti.

I. — POTERE DI AMMONIZZAZIONE.

Nella tabella seguente sono riportati i dati tratti dalle diverse analisi:

			NH_3 prodotta (mmg. per litro)					
			Inverno (gennaio)		Primavera (marzo)		Estate (agosto)	
			Valore delle analisi	medie	Valore delle analisi	medie	Valore delle analisi	medie
Campione 1	Suolo		0.17000	0.17600	0.35000	0.31025	0.29000	0.28150
			0.18000		0.34700		0.29200	
			0.17600		0.26000		0.27000	
			0.17800		0.28400		0.27400	
	Sottosuolo		0.15400	0.15160	0.30000	0.30175	0.25150	0.25812
			0.15700		0.29500		0.26000	
			0.14800		0.30000		0.26100	
			0.14900		0.31200		0.26000	
Campione 2	Suolo		0.15700	0.15350	0.23000	0.25075	0.20000	0.19250
			0.15500		0.24600		0.20000	
			0.15000		0.26000		0.18500	
			0.15200		0.26700		0.18500	
	Sottosuolo		0.16100	0.15812	0.24000	0.26775	0.21600	0.21300
			0.16250		0.23600		0.21000	
			0.15300		0.30000		0.21300	
			0.15600		0.29500		0.21300	

		NH_3 prodotta (mmg. per litro)					
		Inverno (gennaio)		Primavera (marzo)		Estate (agosto)	
		Valore delle analisi	medie	Valore delle analisi	medie	Valore delle analisi	medie
Campione 3	Suolo	0.13600 0.13800 0.13450 0.13550	0.13850	0.41000 0.39000 0.40000 0.42000	0.40500	0.30210 0.30000 0.29400 0.29000	0.29652
	Sottosuolo	0.09900 0.10000 0.09950 0.10100	0.09986	0.44000 0.44400 0.45000 0.45100	0.44625	0.17000 0.17000 0.16400 0.16000	0.16600
Campione 4	Suolo	0.08500 0.08700 0.08600 0.08500	0.08575	0.34500 0.35200 0.20800 0.20000	0.27625	0.17500 0.17000 0.16500 0.16500	0.16875
	Sottosuolo	0.15000 0.15600 0.15400 0.15200	0.15300	0.34000 0.35700 0.38000 0.38300	0.36500	0.18500 0.18000 0.17500 0.17500	0.18875
Campione 5	Suolo	0.15030 0.15030 0.14800 0.14300	0.14790	0.40000 0.41000 0.39000 0.40000	0.40000	0.24600 0.25000 0.25600 0.25200	0.25100
	Sottosuolo	0.13000 0.12900 0.12900 0.13000	0.12950	0.56800 0.56800 0.57000 0.56000	0.56650	0.33000 0.33400 0.33500 0.33100	0.33250

In genere il potere di trasformazione della sostanza organica di questi terreni si mantiene entro limiti non molto variabili.

Differenze esistono tra suolo e sottosuolo, in relazione alla natura dei terreni e all'andamento stagionale.

Nei riguardi dei diversi periodi studiati la stagione più attiva è risultata essere per ogni suolo, la primavera; segue l'estate, periodo nel quale non si verificano quegli alti incrementi riscontrati invece nei limitrofi suoli della pianura Pisana e Grossetana; infine, succede l'inverno le cui cifre assumono valori comparabili con quelli dei terreni pisani.

II. — POTERE DI NITRIFICAZIONE

		mmg. HNO_3 per litro (1)		
		Inverno (gennaio)	Primavera (marzo)	Estate (agosto)
Campione 1	Suolo	0.00517	0.01350	0.00370
	Sottosuolo	0.02033	0.00316	0.00300
Campione 2	Suolo	0.03667	0.00383	0.00266
	Sottosuolo	0.23450	0.00800	0.02683
Campione 3	Suolo	0.12500	0.00450	0.01000
	Sottosuolo	0.02333	0.00383	0.00717
Campione 4	Suolo	0.36916	0.01500	0.03000
	Sottosuolo	0.38333	0.01130	0.04266
Campione 5	Suolo	0.03583	0.01500	0.01416
	Sottosuolo	0.50333	0.03660	0.01150

(1) Media di tre analisi.

A prescindere dalle variazioni stagionali, la produzione di nitrati, nei suoli cecinensi, risulta equivalersi ad eccezione che per i terreni riferentisi ai campioni n. 4 e 5, in cui la produzione di acido nitrico raggiunge in qualsiasi periodo, rispetto agli altri, valori più elevati.

Comunque, le variazioni sono da rapportarsi alla natura dei suoli e, come ebbero ad osservare precedentemente Perotti e Mastalli, alle condizioni colturali dei suoli medesimi.

Nei riguardi delle diverse stagioni indagate, in inverno analogamente a quanto si rilevò per i terreni dell'Agro Pisano — si ebbe di norma maggiore attività nitrificante; la quale, come in questi e nei terreni della Maremma di Grosseto, non venne ad interrompersi in estate come si verifica nell'Agro Romano.

III. — POTERE DI DENITRIFICAZIONE

		Ore occorse per la completa scomparsa dei nitrati (1)		
		Inverno (gennaio)	Primavera (marzo)	Estate (agosto)
Campione 1	Suolo	∞	162	136
	Sottosuolo	330	180	127
Campione 2	Suolo	150	96	127
	Sottosuolo	∞ ?	160	110
Campione 3	Suolo	300	142 ?	150
	Sottosuolo	∞	160	126
Campione 4	Suolo	∞ ?	?	118
	Sottosuolo	∞	210	126
Campione 5	Suolo	110	179	180
	Sottosuolo	130	140	110

(1) Le analisi furono eseguite in triplo; il punto interrogativo interpretasi come risultato incerto per il fatto che, delle tre colture allestite, solo parte e incompletamente denitrificarono.

L'andamento del processo di denitrificazione è piuttosto irregolare nei diversi terreni. Maggiore capacità riduttiva rispetto ai nitrati sembra comunque si debba ascrivere ai campioni 2 e 5.

Confrontando i dati ottenuti nelle diverse stagioni risulta evidente come il processo sia lento, se non assente, nel periodo invernale; e questo non in perfetta analogia con quanto verificasi nei terreni della Campagna Pisana dove appunto in inverno, si ha la massima attività denitrificante.

Per i suoli cecinensi, invece, a quanto emerge dalle presenti ricerche e, forse, in dipendenza della reazione anche del terreno, questa massima attivita si verifica durante l'estate.

IV. — POTERE DI AZOTO - FISSAZIONE

		N. mmg. per litro								
		Inverno (gennaio)			Primavera (marzo)			Estate (agosto)		
		iniziale	totale	guadagn.	iniziale	totale	guadagn.	iniziale	totale	guadagn.
Campione 1	Suolo	0.00182	0.08232	0.08050	0.00263	0.12040	0.11777	0.00210	0.09408	0.09198
	Sottosuolo	0.00112	0.07336	0.07224	0.00112	0.08344	0.08232	0.00112	0.07864	0.07752
Campione 2	Suolo	0.00140	—	—	0.00168	0.09184	0.09016	0.00154	0.07000	0.06846
	Sottosuolo	0.00140	—	—	0.00154	0.03864	0.03710	0.00140	0.03556	0.03416
Campione 3	Suolo	0.00150	—	—	0.00154	0.04940	0.04786	0.00168	—	—
	Sottosuolo	0.00070	0.04592	0.04522	0.00187	0.05768	0.05581	0.00159	0.04940	0.04781
Campione 4	Suolo	0.00088	0.01008	0.00920	0.00084	—	—	0.00080	0.00448	0.00368
	Sottosuolo	0.00098	0.00448	0.00350	0.00084	—	—	0.00084	0.00352	0.00268
Campione 5	Suolo	0.00112	0.09408	0.09296	0.00166	0.07000	0.06840	0.00152	0.07336	0.07184
	Sottosuolo	0.00088	0.09464	0.09376	0.00170	0.05488	0.05318	0.00114	0.04940	0.04826

L'assimilazione dell'azoto elementare è compresa, compatibilmente con la reazione acida del mezzo, entro limiti considerevoli, se si eccettuano i suoli in cui, per tale carattere pedologico, non si ebbe sviluppo di oligonitrofili.

Di norma, in profondità, è sempre leggermente inferiore. Più attiva in primavera, che negli altri periodi; di un certo valore in estate — periodo in cui, per molti terreni, viene invece ad essere inibita.

CONCLUSIONI

Il secondo contributo, che con le presenti ricerche viene a portarsi alla microbiologia dei terreni della Bassa Val di Cecina, permette di fissare i seguenti fatti principali:

1° — Il contenuto quantitativo microbico dei terreni cecinensi si mantiene entro limiti modesti, in se stessi ed in confronto dei limitrofi suoli della Maremma Grossetana e dell'Agro Romano.

Lo stato di coltura influisce, comunque, favorevolmente sul regime microrganico.

Ed altresì vi influisce, sebbene non troppo, l'andamento stagionale risultando il numero massimo di germi nel periodo primaverile-estivo.

2° — Qualitativamente la flora è abbastanza omogenea.

Le forme batteriche sono da ascriversi a quelle banali del suolo ancorchè alcune di esse non sieno state da altri precedentemente descritte quali il *Bact. Danielii* ed il *Bact. flavum non liquefaciens.*

Non mancano con esse, forme fungine comuni e relativamente abbondanti.

3° — I processi putrefattivi della sostanza organica si compiono regolarmente, ed in ogni caso si ha produzione di ammoniaca sufficiente ai bisogni della coltivazione.

I microbi ammonizzanti, ciò non pertanto si dimostrano sensibilmente influenzati nel loro sviluppo dalla natura dei terreni e dall'andamento stagionale.

4° Il potere di nitrificazione risulta soddisfacente. Si ha una certa uniformità nei riguardi della ubicazione dei suoli; si hanno per contro differenze con il succedersi delle stagioni, risultando massimo in inverno e non nullo in estate, come verificasi in altre regioni.

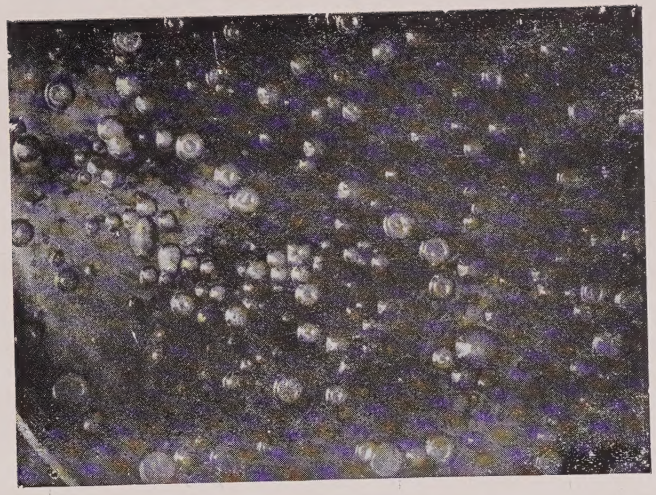
5° — I terreni in esame dimostrano pure una certa regolarità nei riguardi delle attività riducenti sui nitrati. La denitrificazione si compie molto lentamente in inverno; più energicamente nel periodo estivo.

6° — L'assimilazione dell'azoto elementare, infine, assume valori considerevoli, tanto più quando si consideri la natura acida dei terreni. Però alcuni di questi, in alcuni periodi, non permettono lo sviluppo di oligonitrofili.

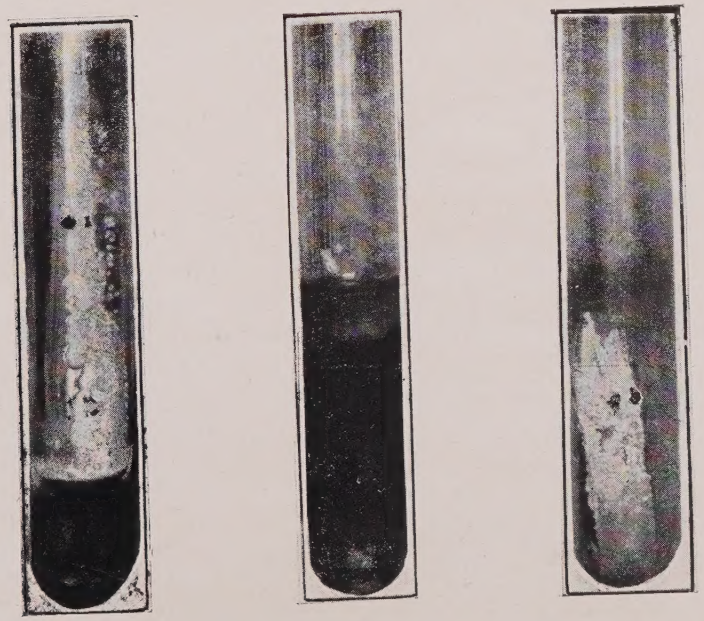
In primavera sembra essere più intensa; minore è durante gli altri periodi stagionali.

Questo, limitatamente ai terreni studiati e alle epoche in cui si compirono le presenti indagini.

Dal Laboratorio di Batteriologia Agraria
del R. Ist. Sup. Agr. di Pisa, novembre 1929 - A. VIII.

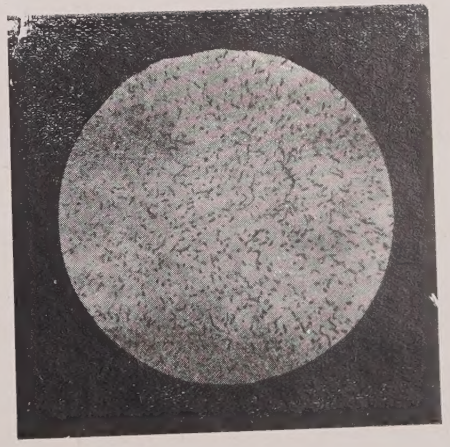


1



a *b* *c*

2



3

BACTERIUM DANIELII, Verona e Del Tredici.

1. — Colonie su *agar fagiuoli*.
2. — Striscio su *agar fagiuoli* (a), *infissione in gelatina* (b), su *carota* (c).
3. — Microfotografia della forma.